

Поиск и клонирование генов, кодирующих белок Cpf1, из бактерий рода *Moraxella*

Научный руководитель – Романенко Маргарита Владимировна

Васиховская Валерия Александровна

Студент (магистр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: vasikhovskaya_v@mail.ru

Получение фермента Cpf1 является перспективной биотехнологической задачей как с точки зрения научного, так и экономического интереса. Белок Cpf1 является эндонуклеазой, функционирующей в системе адаптивного иммунитета прокариот CRISPR. Система основана на расщеплении чужеродной ДНК, при этом предварительно происходит вырезание участка инвазивной ДНК, встраивание его в хозяйский геном и при повторном заражении с хозяйской ДНК будет транскрибироваться РНК, нацеливающая эндонуклеазу на мишень. Таким образом, эта система позволяет редактировать геном *in vivo*, но кроме того может использоваться и *in vitro* для клонирования и гидролиза целевой ДНК в конкретном месте, что не всегда могут сделать эндонуклеазы рестрикции, так как их сайтов в геноме может быть очень много (Mougiakos *et al.*, 2016).

Cpf1 является открытым в 2015 году аналогом более хорошо изученного белка Cas9, но имеет ряд преимуществ по сравнению с Cas9 (Fagerlund *et al.*, 2015; Zetsche *et al.*, 2015). Из литературных данных известно, что ген *cpf1* обнаружен у бактерий рода *Moraxella*, несколько штаммов которых есть в коллекции компании «СибЭнзайм» (г.Новосибирск), поэтому цель работы заключалась в поиске генов, кодирующих Cpf1, с последующим клонированием данных генов в составе экспрессирующего вектора.

В данной работе был проведен теоретический поиск последовательностей генов *cpf1* в геноме нескольких штаммов бактерий рода *Moraxella* и экспериментально подтверждено наличие гена как минимум у трех штаммов. Методом прогулки по хромосоме была определена последовательность начала и конца гена для штамма *Moraxella bovis*. Целевой ген был успешно клонирован по методу гомологичной рекомбинации в составе экспрессирующего вектора в виде двух различных конструкций с наличием гистидинового тега для последующей очистки белка, а также без него в случае, если он будет мешать проявлению функциональной активности Cpf1.

Источники и литература

- 1) Fagerlund, R. D., Staals, R. H. J. and Fineran, P. C. (2015) 'The Cpf1 CRISPR-Cas protein expands genome-editing tools', *Genome Biology*. *Genome Biology*, 16(1), p. 251.
- 2) Mougiakos, I. et al. (2016) 'Next Generation Prokaryotic Engineering: The CRISPR-Cas Toolkit', *Trends in Biotechnology*. Elsevier Ltd, 34(7), pp. 575–587.
- 3) Zetsche, B. et al. (2015) 'Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System', *Cell*, 163(3), pp. 759–771.